



УДК 597.551.2-131:577.352.4:546.33'131.1

АКТИВНІСТЬ Na^+ , K^+ -АТФ-ази МЕМБРАН ЗАРОДКІВ В'ЮНА ВПРОДОВЖ РАНЬОГО ЕМБРІОГЕНЕЗУ ЗА ДІЇ ГІПОХЛОРИТУ НАТРІЮ

А. Р. Зинь, С. М. Мандзинець, Н. П. Головчак, М. В. Бура, Д. І. Санагурський

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна
e-mail: avolina@yandex.ru

У статті наведені дані щодо впливу гіпохлориту натрію (ГХН) на активність Na^+ , K^+ -АТФ-ази мембран зародків в'юна *Misgurnus fossilis* L. на ранніх стадіях розвитку. Встановлено, що ГХН, доданий у середовище, де розвиваються зародкові клітини, дозозалежно інгібує Na^+ , K^+ -АТФ-азну активність мембран. Це може бути пов'язано з окисними властивостями ГХН та його здатністю порушувати цілісність мембрани, зокрема, пошкоджувати наявні там білки та ліпіди.

Ключові слова: мембранний транспорт, плазматична мембрана, зародки в'юна, Na^+ , K^+ -АТФ-аза, гіпохлорит натрію.

ВСТУП

Широке застосування гіпохлориту натрію NaClO (ГХН), як детоксиканта й антисептика пов'язане з його здатністю окислювати токсичні речовини в крові і тканинах [8–11, 15]. Це зумовлює ефективність використання цієї сполуки при лікуванні екзо- і ендотоксикозів. Відомо, що в невеликих дозах ГХН є нетоксичним і легко виводиться з організму [4, 15, 16]. Проведено багато досліджень щодо морфологічно-функціональної оцінки органів та систем органів організму щурів, поросят і курей [9, 10, 24] за впливу розчинів ГХН на тлі Т-2 токсикозу [4, 6, 8, 11, 14]. Разом з тим залишається нез'ясованим механізм його дії на клітини здорового організму, а також його ефективність при використанні з метою профілактики.

Актуальним у сучасній біофізиці є вивчення функціонування іонтранспортних систем плазматичних мембран (ПМ) за дії різних фізико-хімічних чинників. При цьому значна увага приділяється особливостям їхньої взаємодії власне з ПМ, котра є першою ланкою у сприйнятті зовнішніх сигналів і трансформації їх у клітинну відповідь. ПМ забезпечує вибіркочувачу проникність для речовин, що транспортуються у процесі життєдіяльності, які мають вагоме значення у подальшому розвитку організму. Однією з важливих функцій ПМ є підтримання іонних градієнтів по обидва боки мембрани, що досягається завдяки функціонуванню спеціальних ферментних систем, вбудованих у мембрани клітин – такі як Na^+ , K^+ -АТФ-аза, Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФ-аза. Вони енергетично забезпечують активний транспорт іонів крізь плазма-

тичну мембрану [5]. Зокрема, Na^+ , K^+ -активована, Mg^{2+} -залежна АТФ-аза (АТФ-гідролаза, оубаїнчутлива Na^+ , K^+ -АТФ-аза, Na^+ , K^+ -помпа, ЕС 3.6.1.37) плазматичної мембрани клітин має важливе значення для процесів клітинної фізіології та ембріогенезу, підтримує градієнт іонів натрію та калію в клітині [5]. Ці транспортні системи є чутливими до дії різних хімічних і фізичних чинників. Згідно з даними літератури, вищезгадані системи є також чутливими до дії природних оксидантів, зокрема пероксид водню та гіпохлоритна кислота [3].

Враховуючи це, вивчення впливу різних концентрацій ГХН на активність Na^+ , K^+ -АТФ-ази зародкових клітин протягом раннього ембріогенезу є актуальним і перспективним напрямом досліджень. Воно допоможе краще зрозуміти механізми біологічної дії цієї речовини і з'ясувати можливість застосування ГХН, що важливо для токсикології, ветеринарії й медицини.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження проводили на зародках прісноводної риби в'юна *Misgurnus fossilis* L. через 60, 150, 210, 270 і 330 хв після запліднення яйцеклітин. Використовували зародки під час стадій, які відповідають першому дробленню зиготи (2 бластомери), четвертому (16 бластомерів), шостому (64 бластомери), восьмому (256 бластомерів) і десятому (1024 бластомери). Овуляцію стимулювали внутрішньом'язовим введенням самкам хоріогонічного гонадотропіну (500 од.). Ікру одержували через 36 год після стимуляції самок в'юна хоріогонічним гонадотропіном (500 од.) і запліднювали в чашках Петрі суспензією спермійв, як описано у [19]. Через 5–10 хв після запліднення зиготи відмивали й інкубували у розчині Гольфрета при 21°C.

Мікосомну фракцію мембран одержували методом диференційного центрифугування гомогенату зародків у градієнті густини сахарози [17]. Перед початком експерименту аліквоти мембранної фракції переносили у стандартне середовище інкубації такого складу (ммоль/л): NaCl – 30,0; KCl – 125,0; MgCl_2 – 3,0; Tris-Cl – 50,0 (рН=7,4; $t = 21^\circ\text{C}$).

Дослідження впливу ГХН на активність Na^+ , K^+ -АТФ-ази зародків були проведені *in vitro*. У середовище інкубації перед початком реакції гідролізу додавали 0,1 мл розчину ГХН відповідної концентрації (0,5÷12,5 мг/л). АТФ-гідролізу реакцію ініціювали додаванням 3 ммоль/л АТФ, реакційну суміш інкубували 15 хв ($t = 21^\circ\text{C}$) і реакцію зупиняли додаванням 10% трихлороцтовою кислотою (ТХО). Na^+ , K^+ -АТФ-азну активність визначали за різницею між вмістом Φ_{H} (неорганічного фосфату) у стандартному безкальцієвому середовищі при додаванні та за відсутності оубаїну (1 ммоль/л). Питому активність АТФ-азної системи досліджуваних клітин оцінювали за різницею між концентрацією Φ_{H} , що утворився в середовищі інкубації за наявності та відсутності фрагментів мембран; поправку на вміст ендогенного Φ_{H} визначали при додаванні аліквоти тільки мембранного препарату зародків на відповідній стадії розвитку й виражали активність досліджуваної АТФ-ази зародків у мкмольях Φ_{H} у перерахунку за 1 год на 1 мг білка. Кількість продукту реакції Φ_{H} визначали за модифікованим методом Фіске-Суббароу [30], а вміст білка в суспензії мембранного препарату – за методом Лоурі [35]. Статистичне опрацювання даних здійснювали з використанням програмного пакета для персональних комп'ютерів *Microsoft Excel*, достовірність змін встановлювали за t -критерієм Стьюдента [12].

У роботі застосовували такі реактиви: EGTA, NaN₃ („Merk”, Німеччина), ouabain („Fluka”, Швейцарія), АТФ („Acros”, Бельгія), tris(hydroxymethyl)aminomethane („Acros”, Бельгія). Інші реактиви були вітчизняного виробництва, кваліфікації х.ч. або ч.д.а.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХНЕ ОБГОВОРЕННЯ

Під час дослідження активності Na⁺, K⁺-АТФ-ази зародків в'юна упродовж раннього ембріогенезу за контрольних умов показано [18], що АТФ-азна активність змінюється протягом клітинного поділу бластомерів: вона є максимальною в інтерфазі клітинного циклу, а під час мітозу – зменшується [5–7]. Подібні зміни активності Na⁺, K⁺-АТФ-ази встановлено Леонгом [34] протягом раннього розвитку зародків морських їжаків *Strongylocentrotus purpuratus* і *Litochinus pictus*. Вивчення роботи Na⁺, K⁺-АТФ-ази на зародках морських їжаків [34] показало, що активність цього мембранного ферменту для незаплідненої яйцеклітини та при заплідненні залишаються на одному рівні, а швидке зростання Na⁺, K⁺-АТФ-азної активності відбувається від стадії бластули до стадії ранньої гастрული. Подібні зміни Na⁺, K⁺-АТФ-азної активності до стадії ранньої гастрული описано також і для іншого виду морського їжака *Hemicentrotus pulcherrimus* [37].

У попередніх дослідженнях нашої лабораторії встановлено, що Na⁺, K⁺-АТФ-аза зародків в'юна характеризується низькою активністю на стадії двох бластомерів, а на стадії 8 поділу (256 бластомерів) активність АТФ-ази зростає до максимального значення і становить $17,9 \pm 0,7$ мкмоль Ф_н/год на 1 мг білка (n=10) [23]. Це свідчить про підвищення функціональної активності клітин зародка з кожним наступним етапом розвитку [1, 21, 27]. Вважають, що такі зміни активності мембрано-асоційованих ферментів пов'язані з підвищенням рівня активності молекул цих ферментів під час ембріогенезу, які, власне, й посилюються на цій годині розвитку зародків [20, 27]. Відомо, що у кінці синхронних поділів бластомерів (а саме на стадії 10 поділу бластомерів, тобто на 6-й годині розвитку) відбувається зниження ензиматичної активності Na⁺, K⁺-АТФ-ази, падає мітотичний індекс і зростає морфогенетична активність ядер, а всі біосинтетичні процеси потребують перерозподілу пулів макроергів. До цього часу розвиток зародків здійснюється за рахунок генетичної інформації, яка нагромаджена материнським організмом [5, 19, 21, 25].

Відомо, що на цій стадії розвитку зародка в'юна відбувається десинхронізація поділу зародкових клітин.

У зв'язку з деякими особливостями бластомерів в'юна їх не можна прирівнювати до поділу соматичних клітин. Це пов'язано, передусім, із відсутністю на ранніх стадіях ембріогенезу в'юна синтезу деяких компонентів клітин зародків. У період синхронних дроблень бластомерів відбувається ряд фізико-хімічних процесів, пов'язаних із формуванням пускових і регуляторних механізмів мітозу [22].

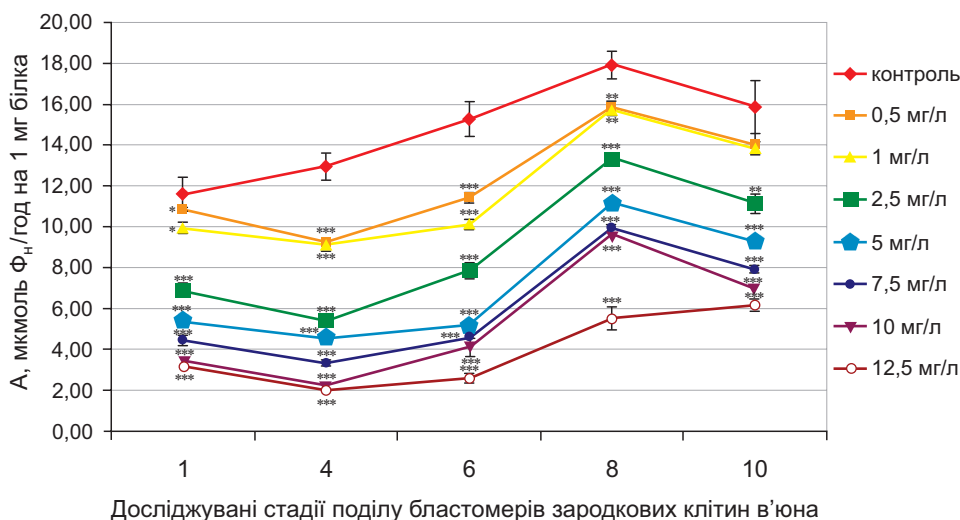
Показано, що Na⁺, K⁺-АТФ-аза є чутливою до високореактивних форм кисню і безпосередньо бере участь в окислювальному стресі [26, 31]. Дослідженнями показано, що фермент характеризується різною чутливістю до ряду окисників: АТФ-аза є стійкою до дії супероксид-аніона, відносно стійкою до пероксиду водню, але дуже чутливою до гіпохлоритного або гідроксильного радикалів [26, 31]. Встановлено, що протягом окисної модифікації Na⁺, K⁺-АТФ-ази відбувається пригнічення активності АТФ-гідролази, що, у першу чергу, залежить від окиснення її SH-груп [31].

Тому окислювальна стабільність Na^+ , K^+ -АТФ-ази є важливим фактором, який дає змогу оцінити виживання клітин за умов окислювального стресу, під час якого відбувається пошкодження мембран клітини [5].

У результаті проведених досліджень на зародках *Misgurnus fossilis* L., які розвивалися за наявності у середовищі 0,5÷12,5 мг/л ГХН, встановлено, що дана речовина проявляє дозозалежну інгібувальну дію на активність Na^+ , K^+ -АТФ-ази плазматичної мембрани. Ці результати узгоджуються з даними літератури, зокрема, існують дані щодо дозозалежного впливу ГХН на функціонування транспортних ферментів, а саме Na^+ , K^+ -АТФ-ази плазматичної мембрани мозку та нирок бика [13, 28].

Відомо, що при порушенні окислювального обміну тканин відбувається інгібування Na^+ , K^+ -АТФ-ази і роз'єднання процесів гідролізу АТФ з активним транспортом іонів [28, 35]. У даному випадку як оксидант виступає ГХН.

Активність Na^+ , K^+ -АТФ-ази плазматичних мембран зародків на стадії 2-х бластомерів становить $11,6 \pm 0,82$ мкмоль Φ_{H} /год на 1 мг білка ($n=10$). Встановлено, що дія досліджуваного оксиданта в концентрації 0,5÷12,5 мг/л на стадії 2-х бластомерів (див. рисунок) призводить до зниження активності мембранопов'язаного ферменту порівняно з контролем від $6,5 \pm 0,8$ ($n=10$, $p \geq 0,95$) та $73 \pm 4,8\%$ ($n=10$, $p \geq 0,999$) за дії ГХН у концентраціях 0,5 і 12,5 мг/л відповідно.



Зміна активності Na^+ , K^+ -АТФ-ази зародків в'юна упродовж раннього ембріогенезу за впливу різних концентрацій ГХН.

Вірогідні зміни порівняно з контролем: * – $p > 0,95$; ** – $p > 0,99$; *** – $p > 0,999$

Changes in Na^+ , K^+ -ATP-ase activity of loach embryos membranes during early embryogenesis under the influence of different concentrations of sodium hypochlorite.

Significance level is shown inside the figure and determined by Student's t-test: * – $p > 0,95$; ** – $p > 0,99$; *** – $p > 0,999$

Активність АТФ-гідролази на стадії 16-ти бластомерів є найменш стійкою до дії ГХН за усіх досліджуваних концентрацій (див. рисунок). За дії 0,5 мг/л ГХН спосте-

рігалося зниження активності досліджуваного ферменту на $28,7 \pm 1,6\%$ ($n=10$, $p \geq 0,999$), а за $12,5$ мг/л – на $84,6 \pm 8,8\%$ ($n=10$, $p \geq 0,999$), порівняно з контролем.

Na^+ , K^+ -АТФ-азна активність мембран зародків на стадії розвитку 64 бластомерів при внесенні у стандартне Mg^{2+} -вмісне середовище інкубації становить $15,3 \pm 0,9$ мкмоль Φ_{H} /год на 1 мг білка. Показано, що під впливом найменшої досліджуваної концентрації ГХН на досліджуваній стадії розвитку активність Na^+ , K^+ -АТФ-ази знижується на $25,2 \pm 2,1\%$ ($n=10$, $p \geq 0,999$), а за найбільшої – на $83,1 \pm 9,2\%$ ($n=10$, $p \geq 0,999$).

Як видно з рисунка Na^+ , K^+ -АТФ-аза є найменш чутливою до дії ГХН на стадії 8 поділу бластомерів. При внесенні в інкубаційне середовище $0,5$ мг/л ГХН активність ферменту достовірно знижувалася на $11,6 \pm 1,7\%$ ($n=10$, $p \geq 0,99$), а за $12,5$ мг/л – на $69,2 \pm 10\%$ ($n=10$, $p \geq 0,999$), порівняно з контролем.

На стадії 10 поділу бластомерів за дії $0,5$ та 1 мг/л ГХН не виявлено достовірних змін активності АТФ-ази зародків, очевидно, досліджуваний окисдант не має такої сильної окиснювальної дії на фермент плазматичної мембрани зародків на пізніших стадіях розвитку, коли відбувається десинхронізація поділу клітин зародка.

З даних літератури відомо, що ГХН є сильним окисником і окислює SH-групи білків і ліпідів мембран. Ми припускаємо, що ГХН окислює SH-групи амінокислот, що, у свою чергу, призводить до зміни конформації Na^+ , K^+ -АТФ-ази і, як наслідок, до інгібування ферменту. Таким чином, у результаті окисної модифікації змінюється не лише ферментативна активність, але й характер ферментативного процесу [2].

Білкові молекули здатні розрізняти іони натрію і калію у водних розчинах. Інтенсивність багатьох ферментативних процесів у клітині залежить від іонів натрію і калію: у більшості випадків іони K^+ є активаторами (наприклад, синтезу ацетилхоліну, білка на рибосомах, дихання мітохондрій, ДНК- і РНК-полімеразної і фосфофруктокіназної реакцій), а іони Na^+ є інгібіторами перших чотирьох вищенаведених клітинних реакцій. Винятком є процеси синтезу ліпідів, які активуються натрієм [2]. Таким чином, пошкодження клітинної мембрани і збільшення співвідношення Na/K у клітині прискорюють утворення ліпідів, необхідних для відновлення інтактності мембрани.

Нами показано, що внесення у середовище інкубації зародків в'юна ГХН частково підвищувало концентрацію іонів Na^+ , що, поряд з окисненням клітинних компонентів, може робити свій вклад у зниження ферментативної активності досліджуваного ферменту зародків.

ВИСНОВКИ

Встановлено, що ГХН дозозалежно пригнічує активність Na^+ , K^+ -АТФ-ази на всіх досліджуваних стадіях розвитку в'юна *Misgurnus fossilis* L. На стадії 16-ти бластомерів встановлено виражене інгібування активності Na^+ , K^+ -АТФ-ази за дії ГХН, а на стадії 8 поділу бластомерів, навпаки, за дії окисданта спостерігається найменше пригнічення активності Na^+ , K^+ -АТФ-ази, порівняно з ефектами на інших досліджуваних стадіях. Отже, ГХН навіть у низьких концентраціях викликає значне зниження активності Na^+ , K^+ -АТФ-ази зародків.

1. Бойко Н.М., Целевич М.В., Санагурський Д.І. Активність Na^+ , K^+ -АТФ-ази мембран за-родків в'юна (*Misgurnus fossilis* L.) за дії катіонів важких металів. **Укр. біохім. журнал**, 2004; 76(2): 22.
2. Болдырев А.А. Na^+ , K^+ -АТФаза – свойства и биологическая роль. **Соросовский образоват. журнал**, 1998; 4: 2–9.
3. Болдырев А.А., Курелка Е.Г., Тюлина О.В. Окислительная устойчивость Na^+ , K^+ -АТФазы. **Доклады Академии Наук РФ**, 1995; 342(4): 546–548.
4. Брезвин О.М. **Токсикодинаміка Т-2 токсину під дією розчину гіпохлориту натрію**: автореф. дис. ... канд. вет. наук: спец. 16.00.04 / Брезвин О. М.; Львів. нац. академія вет. медицини ім. С.З. Гжицького. – Львів, 2005. 19 с.
5. Гойда О.А. **Биофизические аспекты раннего онтогенеза животных**. К.: Наук. думка, 1993. 224 с.
6. Гойда Е.А., Медына И.Р., Чабан В.В., Тызьо Р.В. Роль активности Na^+ , K^+ -АТФазы и уровня рН в регуляции ионной проводимости мембран эмбриональных клеток. **Цитология**, 1990; 32(9): 924–925.
7. Гойда Е.А., Медына И.Р., Санагурський Д.И., Стельмах Н.С. Характеристики электрофизиологических параметров мембран эмбриональных клеток вьюна при ингибировании Na^+ , K^+ -АТФазы. **Онтогенез**, 1989; 20(2): 164–170.
8. Головчак Н.П. **Вплив гіпохлориту натрію на перекисне окиснення ліпідів і системи антиоксидантного захисту головного мозку тварин за експериментального Т-2 токсикозу**: автореф. дис. ... канд. біол. наук: спец. 03.00.02 / Головчак Н.П.; ЛНУ ім. І. Франка. – Львів, 2008. 23 с.
9. Головчак Н.П., Коцюмбас Г.І., Бішко О.І., Санагурський Д.І. Прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз печінки птиці за дії гіпохлориту натрію різних концентрацій. **Фізика живого**, 2011; 18(2): 146–152.
10. Головчак Н.П., Тарновська А.В., Санагурський Д.І., Коцюмбас Г.І. Перекисне окиснення ліпідів головного мозку курей за дії гіпохлориту натрію на тлі Т-2 токсикозу. **Біофізичні механізми функціонування живих систем. 36. тез міжнар. наук.-практ. конф.** – Львів: ЛНУ ім. І. Франка, 2008: 67–68.
11. Головчак Н.П., Тарновська А.В., Коцюмбас Г.І. та ін. Ефективність впливу гіпохлориту натрію на активність супероксид-дисмутази у головному мозку тварин при експериментальному Т-2 токсикозі. **Сучасні проблеми епідеміології, мікробіології та гігієни: Матеріали конф.** – Львів, 2006: 87–90.
12. Деркач М.П., Гумецький Р.Я., Чабан М.Е. **Курс варіаційної статистики**. Київ: Вища школа, 1977. 208 с.
13. Иванов М. Эффект „родного” вещества. **Мед. вестник**, 1995; 21: 7.
14. Коцюмбас Г.І. Вплив різних розчинів гіпохлориту натрію на динаміку гістоструктурних змін і вміст малонового діальдегіду мозочка поросят при Т-2 токсикозі. **Наук. вісник Львів. нац. академії вет. медицини ім. С.З. Гжицького**. Львів, 2006; 8(3):103–140.
15. Коцюмбас І.Я. **Перспективи застосування гіпохлоритів у ветеринарній медицині**. Львів: Афіша, 2009. 312 с.
16. Кушнір Г.В. **Фармакологічна дія високочистого натрію гіпохлориту на організм тварин за хронічного Т-2 токсикозу**: автореф. дис. ... канд. вет. наук: спец. 16.00.04 / Кушнір Г.В.; Львів. нац. академія вет. медицини ім. С.З. Гжицького. Львів, 2009. 22 с.
17. Луцки М.Д., Кусень С.И., Лукьяненко А.В. Очистка і частинная характеристика плазматических мембран клеток зародышей вьюна. **Онтогенез**, 1986; 17(3): 314–321.
18. Медына И.Р., Гойда Е.А., Брежестовский П.Д. Механочувствительные калиевые каналы – один из факторов колебаний потенциала покоя в раннем эмбриогенезе вьюна. **Биол. мембраны**, 1988; 5(9): 960–969.
19. Нейфах А.А., Тимофеева М.Я. **Молекулярная биология процессов развития**. М.: Наука, 1977. 311 с.
20. Озернюк Н.Д. Изменение АТФ-азной активности в период оогенеза вьюна. **Онтогенез**, 1971; 2(4): 431–434.

21. *Pomt H.H.* Клеточные циклы в раннем эмбриональном развитии. М.: Наука, 1987. 207 с.
22. *Санагурський Д.І.* Об'єкти біофізики. Львів: Вид. центр ЛНУ імені Івана Франка, 2008. 522 с.
23. *Целевич М.В., Мандзинець С.М., Санагурський Д.І.* Na⁺, K⁺-АТФ-азна активність мембран зародків в'юна *Misgurnus fossilis* L. при дії антибіотиків. **Фізіол. журнал**, 2004; 50(5): 64–68.
24. *Шурмакевич Л.Р.* Неспецифічна резистентність організму курчат бройлерів при дії розчину високочистого натрію гіпохлориту на тлі вакцинації. **Наук. вісник нац. ун-ту біоресурсів та природокористування України**, 2011; 151(1): 337–342.
25. *Яремкевич О., Перун М., Целевич М.В.* та ін. Na⁺, K⁺-АТФ-азна активність зародків в'юна *in vitro* за впливу поверхнево-активного полімеру. **Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол.**, 2008; 47: 32–41.
26. *Andreoli Sh., McTeer J., Seifert S., Kempson S.* Oxidant-induced alterations in glucose and phosphate transport in LLC-PK1 cells: Mechanism of injury. **Am. J. Physiol.**, 1993; 265: 337–384.
27. *Beritashvili D.R., Kutateladze T.V., Margiani D.O., Kafiani K.A.* Adenosine triphosphatase in the embryonic development of the loach. **Sov. J. Dev. Biol.**, 1975; 5(4): 320–326.
28. *Boldyrev A., Bulygina E., Volynskaya E.* et al. Effect of hydrogen peroxide and hypochlorite on the activity of brain. Na,K-ATPase. **Biochemistry (Moscow)**, 1995; 60: 1810–1819.
29. *Fiske C. H., Subbarow Y.* The Colorimetric Determination of Phosphorus // **J. Biol. Chem.**, 1925; 66: 375–400.
30. *Elmoselhi A.B., Butcher A., Samsons E., Grover A.K.* Free radicals uncouple the sodium pump in pig coronary artery. **Am. J. Physiol.**, 1994; 266: 720–728.
31. *Kong Y., Lesnefsky E., Ye J., Horwitz L.* Prevention of lipid peroxidation does not prevent oxidant induced myocardial contractile dysfunction. **Am. J. Physiol.**, 1994; 267: 2371–2377.
32. *Kukreja R.C., Weaver A.B., Hess M.L.* Sarcolemmal Na,K-ATPase: Inactivation by neutrophil-derived free radicals and oxidants. **Am. J. Physiol.**, 1990; 259: 1330–1336.
33. *Lees G.J.* Inhibition of sodium-potassium-ATPase: A potentially ubiquitous mechanism contributing to central nervous system neuropathology. **Brain Res. Rev.**, 1991; 16: 283–300.
34. *Leong P. K., Manahan D.* Metabolic importance of Na⁺/K⁺-ATPase activity during sea urchin development. **J. Exp. Biol.**, 1997; 200(15): 2881–2892.
35. *Lowry O.H., Rosenbrough N.G., Farr A.L., Randall R.C.* Protein measurement with the Folin phenol reagent. **J. Biol. Chem.**, 1951; 193: 265–275.
36. *Mintorovitch J., Yang G., Shimizu H.* et al. Diffusion-weighted magnetic resonance imaging of acute focal ischemia: comparison of signal intensity with changes in brain water and Na, K-ATPase activity. **J. Cereb. Blood Flow Metab.**, 1994; 14: 332–336.
37. *Mitsunaga-Nakatsubo K., Fujiwara A., Yasumasu L.* Change in the activity of Na⁺, K⁺-ATPase in embryos on the sea urchin. *Hemicentrotus pulcherrimus*, during early development. **Dev. Growth Differ.**, 1992; 34(4): 379–385.

Na⁺, K⁺-ATPase ACTIVITY OF LOACH EMBRYOS MEMBRANES DURING EARLY EMBRYOGENESIS UNDER THE INFLUENCE OF SODIUM HYPOCHLORITE

A. R. Zyn, N. P. Holovchak, S. M. Mandzynets, M. V. Bura, D. I. Sanagursky
 Ivan Franko National University of Lviv, 4, Hryshchivskyi St., Lviv 79005, Ukraine
 e-mail: avolina@yandex.ru

The paper contains data regarding the influence of sodium hypochlorite on the activity of embryos membrane Na⁺, K⁺-ATPase of loach *Misgurnus fossilis* L. in early

stages of the development. We showed that sodium hypochlorite added to the medium where the embryos develop, caused dose-dependent inhibition of the membranes Na^+ , K^+ -ATPase activity. We suggested that effects of sodium hypochlorite were due to oxidizing properties and its ability to disrupt membrane integrity, in particular, damaging proteins and lipids.

Keywords: membrane transport, plasma membrane, loach embryos, Na^+ , K^+ -activated Mg^{2+} -dependent ATPase, sodium hypochlorite.

АКТИВНОСТЬ Na^+ , K^+ -АТФ-азы МЕМБРАН ВЬЮНА В ТЕЧЕНИИ РАННЕГО ЭМБРИОГЕНЕЗА ПОД ВЛИЯНИЕМ ГИПОХЛОРИТА НАТРИЯ

А. Р. Зынь, Н. П. Головчак, М. В. Бура, С. М. Мандзинець, Д. І. Санагурський

*Львовский национальный университет им. Ивана Франко,
ул. Грушевского, 4, Львов 79005, Украина
e-mail: avolina@yandex.ru*

В статье приведены данные о влиянии гипохлорита натрия (ГХН) на активность Na^+ , K^+ -АТФ-азы мембран зародышей вьюна *Misgurnus fossilis* L. на ранних стадиях развития. Установлено, что ГХН, добавленный в среду, где развиваются зародышевые клетки, дозозависимо ингибирует Na^+ , K^+ -АТФ-азную активность мембран. Это может быть связано с окислительными свойствами ГХН и его способностью нарушать целостность мембраны, в частности, повреждать имеющиеся там белки и липиды.

Ключевые слова: мембранный транспорт, плазматическая мембрана, зародыши вьюна, Na^+ , K^+ -АТФ-аза, гипохлорит натрия.

Одержано: 08.07.2011